

MULTIPLE ITEM MEASURING DRY ANALYTICAL ELEMENT

Patent number: JP8029416
Publication date: 1996-02-02
Inventor: KITAJIMA MASAO
Applicant: FUJI PHOTO FILM CO LTD
Classification:
- **International:** G01N33/52; G01N31/22
- **European:**
Application number: JP19940167684 19940720
Priority number(s):

Abstract of JP8029416

PURPOSE: To accurately measure multiple analytical items with every division in a small quantity of sample by partitioning a multilayer analytical element into plural divisions with a hydrophobic ink.

CONSTITUTION: A hydrophilic polymer layer and a porous developing layer are layered on a water-impermeable support body, and an analytical element is constituted. The porous developing layer is a layer to supply a component contained in an aqueous specimen at a fixed quantity rate per unit area to the hydrophilic polymer layer, and for example, a porous film of a cellulose derivative is preferable. Gelatin or the like is preferable as the hydrophilic polymer layer, and a transparent film composed of polyethylene terephthalate or the like is desirable as the water-impermeable support body.

Hydrophobic ink is composed of a water repellent substance such as polydimethyl siloxane, a solvent such as water an ether, and a space does not exist in a division shape to be partitioned. A specimen is attached to a point of such a multilayer analytical element, and after it is dried, at least the porous developing layer is partitioned into divisions by the hydrophobic ink by electrostatic printing or the like, and a measuring reagent to cause different detecting reactions is attached to points of respective partitioned division parts, and they are measured. Therefore, multiple analytical items can be accurately measured in a small quantity of sample.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-29416

(43) 公開日 平成8年(1996)2月2日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/52		B		
31/22	1 2 1	G		
		M		

審査請求 未請求 請求項の数1 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願平6-167684	(71) 出願人	000005201 富士写真フイルム株式会社 神奈川県南足柄市中沼210番地
(22) 出願日	平成6年(1994)7月20日	(72) 発明者	北島 昌夫 埼玉県朝霞市泉水三丁目11番46号 富士写真フイルム株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 田中 政浩 (外1名)

(54) 【発明の名称】 多項目測定用乾式分析要素

(57) 【要約】

【目的】 多層分析要素を、確実に液体の浸透を遮断して分画でき、この分画線がなるべく細かく、かつ量産が容易な分画手段を提供する。

【構成】 水不透過性支持体の上に少なくとも親水性ポリマー層および多孔性展開層がこの順に積層されている、測定試薬を含まない多層分析要素が疎水性インクで複数の区画に仕切られている多項目測定用乾式分析要素。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 水不透過性支持体の上に少なくとも親水性ポリマー層および多孔性展開層がこの順に積層されている、測定試薬を含まない多層分析要素が疎水性インクで複数の区画に仕切られている多項目測定用乾式分析要素

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、臨床分析分野等において少量の試料で多項目を測定でき、また、液体試料を採取後分析までに時間がかかる場合等に有効な分析要素に関するものである。

【0002】

【従来の技術】最近、少量の液体試料を正確に定量分析しうる手段として一体型の多層よりなる乾式分析要素が開発され、その改善あるいは多様化を進めるべく種々の研究が行われている。この乾式分析要素は分析に必要な全ての試薬が予め組み込まれており、液体試料を点着して生じた発色を測定するだけで定量分析することができる。

【0003】この乾式分析要素の欠点として、次のような問題点が本発明者によって既に指摘されている。すなわち、このような乾式分析要素は、反応に必要な全ての試薬を要素の中に組み込まねばならず、用いられる試薬の特性が分析対象項目によって1つずつ異なるので、処方開発及び製造条件の最適化に多大の労力と時間、設備がかかるという大きな問題点がある。また、全ての試薬を含んでいるので、分析要素を長期に渡って保存するには十分な乾燥状態を確保する必要がある。このため、通常分析要素1枚毎に防湿包装をし、必要に応じて更に乾燥剤を包装内に共存させる等の対策がとられている。温度も、冷蔵保存が前提となっている。こうした乾燥包装、冷蔵保存を前提としても、保存期間は1～2年が限度であり、ドライケミストリー分析要素の価格を押し上げている。

【0004】本発明者はこのような問題点を解決する手段として、液体試料が供給されている、水不透過性支持体上に少なくとも親水性ポリマー層、展開層を積層した、測定試薬を含まない分析要素に、測定試薬溶液を供給して反応を起こさせる工程、および該反応を起こした分析要素を、光学的手段を用いて測定する工程、を含むことを特徴とする乾式分析要素を用いた測定方法を既に開発した（特開平5-26865号公報）。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明者は現在の乾式分析要素を用いたもうひとつの問題点として、この分析要素は全ての試薬を含んでいるので、検体を点着後、直ちに反応が進行することにあることに気付いた。これは検体の採取場所と分析場所が異なったりして検体採取から分析までに時間を要する場合には検体を変質させずに

液体のまま保存しなければならないことを意味し、上述した溶液法の場合と同様手間がかかるばかりでなく技術的にも困難なことが多い。さらに、複数の分析項目を分析する場合には、分析項目の数だけ各分析要素に検体を点着しなければならない、これは手間がかかるばかりでなく、必要検体液量も多くなりがちである。

【0006】本発明者は、この解決策として、水不透過性支持体の上に、少なくとも親水性ポリマー層、多孔性展開層がこの順に積層されている、測定試薬を含まない多層分析要素に検体を点着し、乾燥後、少なくとも該多孔性展開層を分画し、その後分画された各部分にそれぞれ異なった検出反応を起こす測定試薬を点着し、測定を行うことを特徴とする多項目分析方法を開発した（特願平5-4153号特許出願）。

【0007】本発明の目的は、この多層分析要素を、確実に液体の浸透を遮断して分画でき、この分画線がなるべく細かく、かつ量産が容易な分画手段を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者は上記課題を解決するべく鋭意検討の結果、疎水性インクを用いて分画する手段を開発し、本発明の目的を達成するに至った。

【0009】すなわち、本発明は、水不透過性支持体の上に少なくとも親水性ポリマー層および多孔性展開層がこの順に積層されている、測定試薬を含まない多層分析要素が疎水性インクで複数の区画に仕切られている多項目測定用乾式分析要素に関するものである。

【0010】本発明の分析要素の基本構成は、水不透過性支持体の上に、親水性ポリマー層および多孔性展開層が、この順に積層されて成る。

【0011】多孔性展開層は、水性の検体に含有されている成分を実質的に偏在させることなしに平面的に拡げ、単位面積当たりほぼ一定量の割合で親水性ポリマー層に供給する機能を有する層であり、これまでドライケミストリー分析要素に使われている展開層として、公知の非繊維質及び繊維質の全ての多孔性材料を用いることができる。具体的には特開昭49-53888に開示されているメンブランフィルター（ブラッシュドポリマー）に代表される非繊維性等方的微多孔質媒体層、特開昭55-90859等を開示されたポリマーマイクロビーズが水不膨潤性の接着剤で点接触状に接着されて成る連続空隙含有三次元格子粒状構造物層に代表される非繊維性多孔性層、特開昭55-164356、同57-66359等を開示された織物布地からなる多孔性層、同60-222769等を開示された編物布地からなる層等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

【0012】例えば、セルロース誘導体（DAC、TAC、NC、HMC（ヒドロキシメチルセルロース）、HEC（ヒドロキシエチルセルロース））の多孔質膜、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、塩化ビニ

ール等のエチレン重合体または共重合体で作られた多孔質膜、ポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート、ポリスルホン等で作られた多孔質膜、アクリル酸やメタクリル酸、これらのエステルビニル重合体または共重合体から成る多孔質膜、ナイロン、ポリアミド、ポリウレタン等の縮合重合体の多孔膜、ガラス粒子、けい藻土等の無機材料微粒子を少量のポリマーで結合させて作られた多孔性膜、ポリテトラフルオロエチレンで作られた多孔性膜、濾紙、ガラス繊維濾紙等がある。

【0013】展開層は、1層だけに限定する必要はなく、特開昭61-4959、同62-138756、同62-135757、同62-138758等に掲示されている様に、2層以上の層を重ねて用いることができる。

【0014】展開層中には、検体の展開を促進するために、ノニオン、アニオン、カチオンもしくは両性の界面活性剤を含ませることができる。

【0015】また、展開性をコントロールする目的で、親水性のポリマー等の展開制御剤を含ませることができる。

【0016】更に、目的とする検出反応を促進する為の、あるいは干渉、妨害反応を低減、阻止する為の各種試薬、もしくは試薬の1部を含ませることができる。

【0017】展開層の厚さは、20~200 μm 、好ましくは50~170 μm 、更に好ましくは80~150 μm である。

【0018】分析要素は、分析項目等によっては上記の多孔性展開層が単に水不透過性支持体に積層されているだけでもよいが、多孔性展開層と支持体の間に親水性ポリマー層を設けることによって分析項目等の普遍性を飛躍的に高めることができる。

【0019】親水性ポリマー層には、これにはこれまでドライケミストリー分析要素に使われている公知の水に可溶性、膨潤性、親水性の各種ポリマーを用いることができる。水吸収時の膨潤率が30℃で約150%から約2000%、好ましくは約250%から約1500%の範囲の天然又は合成親水性ポリマーを使用することができ、具体的には、特開昭59-171864、同60-108753等に掲示されたゼラチン（例えば、酸処理ゼラチン、脱イオンゼラチン等）、ゼラチン誘導体（例えば、フタル化ゼラチン、ヒドロキシアクリレートグラフトゼラチン等）、アガロース、プルラン、プルラン誘導体、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

【0020】親水性ポリマー層に代えて、ポリマー多孔質膜等を用いることもできる。

【0021】親水性ポリマー層の厚さは、乾燥時に約1 μm ~約100 μm 、好ましくは約3 μm ~約50 μm 、特に好ましくは約5 μm ~約30 μm であり、実質的に透明であることが好ましい。

【0022】親水性ポリマー層中には、目的とする反応を促進する、もしくは干渉、妨害反応を防止、低減する

ための各種試薬もしくは試薬の1部を含ませることができる。

【0023】水不透過性支持体としては、これまでドライケミストリー分析要素に使われている公知の水不透過性の支持体を用いることができる。具体的には、ポリエチレンテレフタレート、ビスフェノールAのポリカーボネート、ポリスチレン、セルロースエステル（例えば、セルロースジアセテート、セルローストリアセテート、セルロースアセテートプロピオネート等）等から成る厚さ約50 μm ~1mm、好ましくは約80 μm ~約300 μm の透明フィルムを用いることができる。

【0024】支持体は、通常光透過性のものを用いるが、展開層側から測定をする場合には、着色されていても、もしくは光不透過性であっても良い。

【0025】支持体の表面には、必要により公知の下塗層もしくは接着層を設けて、親水性ポリマー層との接着を強固にすることができる。

【0026】疎水性インクは撥水性物質と必要により使用される溶媒または分散媒からなる。撥水性物質はポリジメチルシロキサン、その誘導体等のシリコーンオイル、硬化型ひまし油、アマニ油等の硬化型油脂、塩化ビニル酢酸ビニル、シリコーン樹脂、フッ素化ポリエチレン等である。これらは液状あるいは微粒子状で使用される。微粒子の場合粒径は細かいものでなければならず、10 μm 以下、特に1 μm 以下のものが好ましい。

【0027】溶媒または分散媒（以下、一括して溶媒という。）は撥水性物質を溶解あるいは分散させるものであり、水、低級アルコール、等の親水性溶媒あるいはノルマルヘキサン、そのほか蒸気圧が高く、沸点がおよそ200℃以下の石油系溶剤やエステル、エーテル類等の親油性溶媒のいずれも使用できる。但し、親水性溶媒の場合には撥水性物質を安定分散させるため、一方、親油性溶媒の場合にはインクの展開層への浸透を容易にするため界面活性剤を添加しても構わない。

【0028】上記の溶媒は印刷後の除去が容易な点で200℃以下、特に150℃以下で蒸発あるいは揮散しうるのが好ましい。

【0029】疎水性インクのその他の成分としては撥水性物質が常温で液体の場合には印刷後の展開層における浸透拡散を阻止するため撥水性物質を吸収する能力を有する微粒子を添加することが好ましい。このような微粒子はやはり粒径が10 μm 以下、特に1 μm 以下のものがよい。微粒子の例としては2酸化チタン、硫酸カルシウム、ポリマーラテックス等を挙げることができる。

【0030】疎水性インクによって仕切られる各区画の形状は問わないが、正方形、長方形、三角形、五角形、六角形等の多角形、丸、等である。大きさは正方形の場合で1辺2~10mm、特に4~8mm程度が適当である。疎水性インクの撥水性物質は展開層の下端まで浸透していることが必須であるが好ましくは親水性ポリマー層には

浸透している方が良い。仕切線の巾は0.1～2mm、好ましくは0.5～1mmである。

【0031】疎水性インクの多層分析要素への適用方法としては、静電印刷、インクジェット印刷、グラビア印刷、シルクスクリーン印刷、筆塗り、ノズルからの圧入等いかなる手段によってもよい。

【0032】インクの印刷後は必要により乾燥処理する。

【0033】本発明の分析要素は展開層の上に血球分離要素を積層することにより全血試料分析用の血漿受容要素とすることができる。

【0034】血球分離要素としては、特開昭62-138756～8号公報、特開平2-105043号公報、特開平3-16651号公報等に記載された繊維質多孔性層と非繊維質多孔性層を部分的に配置された接着剤で接着（部分接着）一体化したもの、セルロースエステル表面が親水化された弗素含有ポリマー、ポリスルホン等の血球分離能を有する微多孔性層等を使用できる。特に好ましいものは、血液点着側に繊維質多孔性層を配置し、血漿受容層側に非繊維質多孔性層を配置して両者を部分接着により一体化した血球分離要素である。

【0035】次に、被検物質について説明する。本願発明においては、対象とする被検物質は特に限定されない。通常臨床検査の分野で測定される酵素、脂質、無機イオン、代謝産物、蛋白質等の他、各種グロブリン、免疫抗原、免疫抗体等の生体由来成分、薬物、ホルモン、腫瘍マーカー、DNA、RNA等、分析方法さえ確立していれば、分析対象とすることができる。

【0036】本発明において、測定試薬とは、分析対象である被検物質と直接反応して化学変化を生ぜしめる試薬を指す。即ち、酵素が被検物質である場合にはその基質、被検物質が抗原（抗体）である場合には抗体（抗原）であり、被検物質が脂質、糖、代謝産物であって酵素によって検出可能な変化を生ずる化合物である場合にはその酵素である。また、これらの反応が酵素以外の化学試薬による一般の化学反応によつて起こされる場合には該当する化学物質を言う。以下に具体例を挙げて説明する。

【0037】被検物質が酵素であるGOTの場合には、その基質であるアスパラギン酸と α -ケトグルタル酸、アミラーゼであれば高分子量の澱粉もしくは低分子量のオリゴサッカライド、GGTであればL-γ-グルタミルパラニトロアニリド、ALPであればパラニトロフェニルフォスフェートである。

【0038】また、グルコースであればグルコースオキシダーゼ、尿酸であればウリカーゼ、コレステロールであればコレステロールエステラーゼもしくはコレステロールオキシダーゼ、中性脂肪であればリパーゼもしくはエステラーゼ、尿素であればウレアーゼ等である。

【0039】分析対象が蛋白質、アルブミン、Ca、無

機リン等、被検物質と指示薬等とが直接反応して検出可能な変化を生ずる場合には指示薬を指す。

【0040】本発明の目的の一つは、従来のドライケミストリーの欠点である、分析要素の保存中に起こる検出試薬の劣化を起こさせないことにあるので、上記の反応系中に組み込まれる反応試薬が酵素のように不安定なものである場合には、これらも測定試薬の中に含ませることが好ましい。

【0041】即ち、測定試薬溶液中に含めるべき試薬と、分析要素中に含めるべき試薬との分配に関しては、分析性能や保存安定性を指標として様々に変えることができる。分析対象が一つであっても、検出反応系組立によつて上記の分配が異なるのは勿論である。

【0042】測定試薬の中には、反応を安定に再現性良く進行させるために、pHやイオン強度を調節する、分析要素を構成する材料への拡散・浸透を良くする、含有する酵素等の不安定性を改善する、等の目的で各種試薬を含ませることができる。

【0043】また、測定試薬の中には検出反応と競合する反応を阻害するための試薬を含ませることもできる。このような試薬としては、例えば、ビリルビンオキシダーゼやアスコルビン酸オキシダーゼ等がある。更に、アイソザイム検出の為に特定の生物に由来する酵素を阻害する化合物、例えばP型アミラーゼの阻害剤等を含ませることができる。

【0044】更に、全血測定では、ヘモグロビンのカタラーゼ活性の阻害剤として有効なNa₂S₂O₃等を添加することもできる。

【0045】本願発明において、液体試料を供給した後、測定試薬を供給するまでの間隔が長い場合には血漿受容要素を一定時間、実質的に一定条件下で乾燥することが好ましい。

【0046】一つの好ましい乾燥方法、条件については特願平2-90562号明細書（特開平3-28954号公報）の第25頁第9行～第28頁第6行、特に第27頁第13行～第28頁第6行に詳細に記載されている。

【0047】インキュベーションの好ましい方法、条件については特願平2-90562号明細書（特開平3-28954号公報）の第25頁第9行～第28頁第6行、特に第27頁第13行～第28頁第6行に詳細に記載されている。

【0048】好ましくは、部分血漿受容要素の周囲が覆われた囲いの中に置いた状態で加熱する方法である。これにより、周囲の温度、湿度に影響されることなく一定の乾燥状態となる。

【0049】温度範囲は10～60℃、好ましくは20～50℃、更に好ましくは30～45℃である。

【0050】インキュベーション中の温度変動は±5℃、好ましくは±3℃、更に好ましくは±1℃である。

【0051】この様な一定条件のインキュベーションを行うのに適したインキュベータが実開平3-126449号公

報に記載されている。即ち、血漿受容要素を要素の収納部に設置した状態で加温手段にて加熱後、恒温に保持するインキュベータであって、該分析要素の収納部の上部に該要素収納部を密閉することが可能で、かつ、着脱可能なカバーを設けられ、該カバーで要素収納部を密閉した際、要素収納部内方に生まれる空間の体積が、分析要素の体積とほぼ一致する様に設計されたインキュベータである。

【0052】一定温度の乾燥風を一定条件で吹き付けても同様に再現性の良い結果が得られるが、上記インキュベータに比べ高価となる欠点を有する。

【0053】安定化させた後、測定試薬を供給するまでに長時間かかる場合、例えば乾式分析要素とか血漿受容要素を病院等に郵送する場合等には、実質的に水分と空気を遮断した状態に保存する必要がある。

【0054】この保存条件の詳細についても同様に、特願平2-90562号明細書(特開平2-289543号公報)の第28頁第12行〜第30頁第11行に記載されている。例えば水分除去手段を設けた金属製の箱、もしくは水分を透過させない有機ポリマーもしくは金属等のフィルム、シート等からなる袋に密閉する方法がある。

【0055】水分除去手段としては、公知の吸湿剤の中から検体を実質的に変質させないものを適宜選択して封入することができる。要素を袋に入れた後、空気を十分にしごきだしても良い。

【0056】また、乾燥剤が存在する水、水蒸気不透過性の密閉容器内で40℃以下で、被検物質が変性し易く酵素の様に不安定な化合物の場合には25℃以下で、好ましくは10℃以下で乾燥する。具体的には、分析要素をファスナー付きのビニール袋、蓋付きのプラスチック容器等に乾燥剤と共に封入して上記温度以下に保つ。乾燥剤は公知の吸湿剤の中から被検物質を実質的に変質させないものを適宜選択して用いれば良いが、安全性、脱水能力等からゼオライト、シリカゲルが好ましく、ゼオライトがより好ましい。形態としては、直径1〜3mm程度の粒子を透湿性の良い和紙製の袋に入れる、ナイロンメッシュに入れる、等がある。ゼオライトもしくはシリカゲル1g当たり多層分析要素を4枚〜10枚乾燥できる。

【0057】乾燥時間は点着された液体試料の量・種類、乾燥剤の種類・形状・容器の大きさ・分析要素との位置関係等によって異なる。通例1〜10時間程度で分析要素の水分の90%以上が乾燥剤により除去・脱水されるような条件を設定することが実用上好ましい。この乾燥時間は温度によっても大きく影響される。保存温度が高いほど、即ち蒸気圧が高い程、乾燥時間は短くて良い。また、冷蔵庫もしくは冷凍庫に放置して一度低温に保った後1℃以上にして乾燥することもできる。この低温乾燥法は、被検物質が酵素の場合にその変性劣化を防止できるので特に有用である。

【0058】この方法で乾燥した場合には、そのままの

形態で検査センターや病院等に郵送できる。

【0059】ここで、「乾燥」とは、該親水性ポリマー中で実質的に反応が進行しない、もしくは被検物質の劣化が進行しない、状態であれば良い。従って、分析対象によって異なり、例えば酵素を対象とする場合には、親水性ポリマー中の水分は20%以下、好ましくは10%以下、更に好ましくは5%以下であれば良い。

【0060】ここで、水分の%は、被検物質を含む水溶液を分析要素に点着した時の水分量を100とした時の比率である。

【0061】これらの多層分析要素を用いて、以下の方法により分析を行う。密閉容器から取り出した分析要素に、分析すべき項目に対応した測定試薬溶液を供給して反応を起こさせる。この反応を、ドライケミストリー分野で公知の方法(反射濃度測光、色変化、蛍光測定、発光測定等)で測定し、検体中に含まれる成分を定量する。

【0062】分析すべき項目に対応した測定試薬溶液としては、ウェットケミストリーで公知の試薬溶液を用いることができる。これらは、分析対象成分と反応して、主として光学的測定方法により検出できる変化、例えば色変化、発色(呈色)、蛍光、発光、紫外線領域における吸収波長の変化、混濁発生等の変化を生じさせる。

【0063】ドライケミストリーの測定法としては、通常反射光学系が用いられる。本発明の方法においても、分析要素の水不透過性支持体を通して測光する方法が最も適用範囲が広いが、検体が全血ではない場合や検体供給後に血球分離要素を除去して測定する場合等には、透過測光方式により測定することができる。

【0064】また、水不透過性支持体が不透明な場合には、支持体の反対側から測定することもできる。

【0065】本発明の分析要素を用いた測定方法の一例を説明する。4つの区画に仕切られた血漿受容要素の上に血球分離要素が跨設された分析要素を、4隅に分析要素の固定片を有するプラスチックマウントに収容する。被検者等が採血して血球分離要素の上に点着し、血漿が血漿受容要素の各区画の多孔性展開層に十分に展開するのを待つ。次いで、血球分離要素を除去し、乾燥剤が存在する密閉容器内で10℃以下で乾燥し、検査機関へ郵送する。検査機関では分析要素を取り出して、アナライザーの点着ステーションに設置し、血漿受容要素の各区画に測定試薬を点着する。例えば、4つの区画にグルコース、尿素窒素、コレステロール及び尿酸測定試薬をそれぞれ点着する。点着が終了したら血漿受容要素を設置しているテーブルを1/4回転させ、インキュベータ部で反応させる。その間点着ステーションには次の血漿受容要素が設置され試薬の点着が行なわれる。インキュベータ部でインキュベーションが行なわれた血漿受容要素はテーブルをさらに1/4回転させ次の待機部に移り、次いで1/4回転させて測光ステーションで4つの区画の

発色が同時に測光され、測光の終了した血漿受容要素はテーブルから排出される。

【0066】測定は各区画ごとに逐次行なってもよいが、複数の、好ましくは全ての区画に同時に測定試薬を点着し、インキュベートし、次いで測光できるようにしておくこともできる。

【0067】本願発明の乾式分析要素は、検体として血液を用いる場合には、乾式分析要素はごく微量の血液しか必要としないので、毛細管ピペット等の適当な器具を用いて採血することができる。更に、乾式分析要素は全血に対応していて、採血したままの全血を測定用液体試料とすることができ、必要に応じて郵送、宅配便等で移送することができるので、在宅血液検査に対して特に有効である。

【0068】血液以外の体液、例えば尿、唾液等もその

適当量を点着するだけで直接検体とすることができる。

【0069】

【実施例】

実施例1

1-1；血漿受容要素の作製

ゼラチン下塗りをしてある厚さ185 μ mのPETフィルムに乾燥膜厚が20 μ mになるようにゼラチンを塗布した。更にその上にNB-13（ポリエステル編物、クラレ製）をラミネートした。更に2%のポリオキシエチレンノニルフェニルエーテルと3%のヒドロキシエチルセルロースを含む水を2g/m²の量で塗布し乾燥させた。

【0070】疎水性インク組成物の調製：下記処方より成る疎水性インク組成物を調製した。

【0071】

【表1】

	処方-1 真 溶 液	処方-2 (非硬化型サス ベンジョン)	処方-3 (硬化型サス ベンジョン)	処方-4 (エマル ジョン)	処方-5 (溶液)
溶 媒	シリコンオイル ポリメチルシロキ サン MW 17万	シリコンオイル ポリメチルシロキ サン分子量約6万 (70%)	ヒマシ油 80% (w/w)	水 (80%)	ノルマル ヘキサン (80%)
分散粒子	——	TiO ₂ 微粒子 15% (w/w)	TiO ₂ 微粒子 10% (重量)	塩ビ・酢ビ コポリマー (20%)	弗素化ポリ エチレン (10%)
添 加 物	——	ポリ酢酸ビニルの 酢酸エチル溶液 15%	ポリ酢酸ビニルの 酢酸エチル溶液 10%	Triton X-100 0.5% (w/w)	

【0072】描線：上記で作製した血漿受容要素を巾20cm、長さ30cmのシート状に切り出した。製図用筆記用具であるカラスロの先端を調製し0.5mmの太さの線が引けるように設定し、血漿受容膜の上に上記で調製した各処方のインクを用い6mm×6mmの柵目になるように基盤状に描線した。描線後放置するとインクが布目に沿って拡散していくものとそうでないものがあった。拡散の程度は処方-1で特に著しく、1日後には描線の巾が2mm以上になってしまった。

【0073】処方-2～3は僅かに広がるが1.5mmを超えることはなかった。また、TiO₂の量を更に増やすことにより線巾を1mm以下に保つことができた。

ポリエチレングリコール（平均分子量5万）

2.0 g

四硼酸ナトリウム

2.0 g

水

96 g

【0077】次に上記含浸済みトリコット編物布地を80℃に加熱し、その表面に130℃に加熱し熔融したホットメルト型接着剤（新田ゼラチン製、H950）を、グラビア印刷法によりグラビアローラーからの転写によりドット状に付着させた。グラビアローラーのドットパターンは、ドット直径0.3mmの円、ドットの中心間距離0.6mm、ドット面積率約20%である。付着した接着剤の量は約2g/m²であった。次いで、接着剤が転写された直後の高温の布地の表面に、有効孔径3.0 μ m、厚さ40 μ m、

【0074】処方-4は水のみが布巾を拡散し、塩化ビニル酢酸ビニル共重合体樹脂の微粒子は最初の描線した時の太さのまま残った。但し、布巾を拡散した水の跡が柵目の中に残った。

【0075】処方-5は蒸発が早い。ポリマーの溶解性も悪くすぐ沈殿・析出するが皮膜を形成せず、微粉末として描線状に残った。溶媒が蒸散してしまうので放置しておいても線の太りはなかった。

【0076】1-2；血球分離要素の作製

50デニール相当のPET紡績糸を36ゲージ編みしたトリコット編物布地（厚さ約250 μ m）に、下記組成の水溶液を含浸し、乾燥させた。

空隙率約80%のセルロースアセテートメンブランフィルターの非光沢面を向かい合わせてラミネートローラーの間を通し、両者をラミネートして接着一体化（部分接着）し血球分離要素を作成した。

【0078】1-3；多層分析要素の作製

この血球分離要素を1-2の工程と同様のグラビア印刷法による部分接着法により1-1の工程で作成した分析要素の下地に接着し、一体化させた。

【0079】即ち、1-2の工程と同様にして、血球分

離要素のメンブランフィルターの表面に加熱し溶解したホットメルト型接着剤(新田ゼラチン製、H950)をグラビア印刷法によりドット状に付着させた後、直ちに1-1の工程で作成した血漿受容要素の下地のブロード織物布地面側と向かい合わせ、両者をラミネートローラーの間を通し、ラミネートして接着一体化した。

【0080】1-4;多層分析スライドの完成
完成した多層分析要素を一辺15mmの正方形チップに裁断し、特開昭57-63452に記載の有機ポリマー製スライド枠に収めて、富士ドライケム5500アナライザー(富士写真フイルム(株)製)で測定可能な形状の多層分析スライドを完成した。

【0081】2. 測定

2-1; 検体の調整

ヘパリン入り健常者全血20mlを採取し、その一部を取って遠心分離し血球成分と血漿成分に分離した。血漿成分の一部を成分濃度既知のコントロール血清(富士ドライケムコントロールLH)と置換して成分濃度を調整した。血球成分とコントロール血清で置換した血漿とを再

び混合することにより成分濃度の調整された全血を再構成した。

【0082】2-2; 検体の点着

上記の多層分析スライドの上に採血したままの全血を、また他の上記スライドの上に検量線作製用に2-1で調製した全血をそれぞれ30μlずつ点着し、室温で30秒放置後ピンセットにて血球分離要素を血漿受容要素から剝離除去した。

【0083】2-3; 脱水乾燥

2-2で得た分析スライドを、ポリエステル不織布で作られた透湿性の袋に入れた、粒径約1mmの顆粒状ゼオライト(新越化成工業(株))2gと共に5cm×7cmの防湿性アルミニウム箔をラミネートしたポリエチレンの小袋に入れ、密封して室温にて3時間保存した。

【0084】2-4; 測定試薬溶液の調整

下記処方からなるグルコース(GLU)、尿素窒素(BUN)、コレステロール(TCHO)及び尿酸(UA)の各測定試薬溶液を調整した。

【0085】

① GLU用測定試薬

2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸	213mg
p-ノニルフェノキシポリグリシドール (平均10グリシドール単位含有)	800mg
ジヒドロキシナフタレン	110mg
4-アミノアンチピリン	140mg
グルコースオキシダーゼ	1300U
ペルオキシダーゼ	5000U
蒸留水	10.0ml

【0086】

② BUN用測定試薬

Triton-X 100(ローム アンド ハース社製)	2g
o-フタルアルデヒド	2g
N-1-ナフチル-N'-ジエチルエチレンジアミン蓚酸	820mg
蒸留水	10ml

【0087】

③ TCHO用測定試薬

コレステロールエステラーゼ	987U
コレステロールオキシダーゼ	600U
ペルオキシダーゼ	6614U
Triton X-100(ローム アンド ハース社製)	0.5g
2-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-4-[4-(ジメチルアミノ)フェニル]-5-フェネチルイミダゾール	30mg
下記処方のバッファー液	10ml

磷酸・2カリウム870.9mgを蒸留水100mlに溶解した液50mlに、磷酸・1リウム・2水素680.5mgを蒸留水100mlに

溶解した液を加えてpH7.5に整した液。

【0088】

④ UA用測定試薬

ウリカーゼ	145U
ペルオキシダーゼ	6794U
Triton X-100(ローム アンド ハース社製)	0.5g
2-(3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-4-[4-(ジ	

【0089】2-5 ; 測定試薬の点着と測定

処方3で作製した4分画スライドの区画No. 1、2、3、4に、それぞれ2-4で調整したGLU、BUN、TCHO及びUAの測定試薬溶液の5 μ lを点着した。この際、試薬溶液がインクによる仕切線を越えてしみ出すことは無かった。

【0090】発色反応を起こしたスライドを37℃で6分間インキュベートし、測光ビームヘッドを調整してビーム径を4mmに絞った富士ドライケム5500アナライザーを用いて、それぞれの発色に相当する波長で反射光学濃度を測定した。各成分濃度と反射光学濃度との関係を検量線としてそれぞれの成分濃度を算出したところ、GLU=104mg/dL、BUN=19mg/dL、TCHO=138mg/dL、UA=4.1mg/dLであった。

【0091】同じ無処理全血の1部を遠心分離して、日立7150を用いて各成分濃度を測定したところ、結果は、GLU=111mg/dL、BUN=18mg/dL、TCHO=141mg/dL、UA=3.9mg/dLであり、本発明の方法によって

得られた値が実用に供しえる正確度を有していることが確認された。

【0092】2-6 ; 繰り返し再現性

上記と同様の操作を10回繰り返して、繰り返し再現性を調べた。変動係数CV (%) はそれぞれ、GLU=5.6、BUN=7.2、TCHO=4.1、UA=4.5、十分精密度の高い測定法であることが判った。

【0093】

【発明の効果】本発明の分析要素は疎水性インクで複数の区画に仕切られているので各区画に点着された測定試薬溶液が区画外にしみ出すことがない。その結果、各区画ごとに異なる分析項目をそれぞれ正確に測定することができる。本発明の分析要素は血球分離要素を積層して使用することにより、少量の血液試料を点着するだけでその血漿成分を各区画にゆき渡らせ、各区画ごとに異なる複数の分析項目を同時にかつ正確に測定することができる。